

ESTUDIO DE LIPIDOS Y LIPOPROTEINAS SERICOS EN SUJETOS QUE HABITAN EN ALTURA

Dra. Diva BELLIDO

INTRODUCCION

La elevación de lipoproteínas ricas en triglicéridos (V.L.D.L.) y/o el aumento de la tasa de lipoproteínas ricas en colesterol (L.D.L.) constituyen un factor preponderante en la incidencia de enfermedades ateromatosas.

SMITH y Col. (1) demostraron que las concentraciones de ésteres de colesterol séricas reflejan la cantidad existente de los mismos en la íntima de la aorta. Por otra parte los pacientes con hiperlipidemia presentan concentraciones elevadas de esfingomielinas y fosfatidilcolinas séricas (2).

Los sujetos que tienen tasas bajas de ácido linoleico tienen riesgos elevados de infarto de miocardio (3); se pudo evidenciar también que las V.L.D.L. de sujetos ateromatosos poseen mayor cantidad de ácido oleico que las V.L.D.L. de sujetos normales (4). Estos trabajos son muy importantes en lo que se refiere a la relación existente entre lípidos séricos y aterogénesis. Por esta razón nos pareció interesante realizar investigaciones análogas, en poblaciones nativas que habitan a grandes alturas y que no manifiestan accidentes cardiovasculares como sucede en los habitantes de grandes alturas (5).

En efecto nosotros realizamos determinaciones cuali-cuantitativas de fosfolípidos, ácidos grasos y lipoproteínas séricas en poblaciones europeas que viven a 280 m. y en poblaciones nativas de Bolivia, que habitan a 3.600 m. sobre el nivel del mar.

MATERIAL Y METODOS

1.— Material Biológico:

El estudio se hizo en sueros provenientes de individuos en ayunas, que habitan a 280 mts. y a 3.600 mts. sobre el nivel del mar.

2.— Preparación de Pre Beta lipoproteínas:

La preparación de esta fracción fue efectuada según el método DELALLA y GOFMAN (6); los quilomicrones son eliminados del suero por centrifugación a 9.000 G durante 30 minutos, luego el suero es sometido a una ultracentrifugación de 105.000 G duran-

te 18 horas con el objeto de separar la fracción Pre Beta Lipoproteica; finalmente una ultracentrifugación en una solución salina de densidad 1.006 es requerida a fin de purificar esta fracción.

3.— Extracción Lipídica:

A un volumen de suero o de V.L.D.L. se le añade 20 volúmenes de una mezcla de cloroformo metanol $\frac{1}{2}$ (V/V), luego se efectúa la extracción de lípidos durante una hora, posteriormente se filtra y evapora; al extracto lipídico seco se le añade una alícuota de cloroformo-metanol $\frac{1}{2}$ (V/V).

4.— Cromatografía de fosfolípidos:

Las diferentes fracciones de fosfolípidos fueron separados por cromatografía en capa fina de silicagel G 0,25 mm. de espesor (Merck y Darmstadt, Alemania).

El solvente empleado para la migración es una mezcla de cloroformo metanol, agua y ácido acético, 75/45/6/12 (V/V/V/V). Las manchas de los fosfolípidos separadas en el silicagel fueron raspadas y evaluadas por el método fotocolorímetro de Chen y Col. (7). La interpretación de los resultados fue realizada según el test de Student para pequeñas poblaciones.

5.— Metilación de ácidos grasos y cromatografía en fase gaseosa:

La metilación se realizó por el método modificado del trifluoruro de boro (8), (9) en una alícuota del extracto lipídico correspondiente a la fracción pre beta lipoproteica.

Los ácidos grasos a estudiar y los ácidos grasos standards disueltos en sulfuro de carbono, son separados en un aparato de Cromatografía de fase gaseosa a temperatura programada de 130°—180°C. (4°C. por minuto) utilizando una columna rellena de dietileno glicol succinato al 10% tratada con dimetildiclorosilano.

6.— Delipidación parcial de V.L.D.L. y Electroforesis en Gel de Poliacrilamida de las Apolipoproteínas:

Una alícuota de la fracción lipoproteica fue sometida a la acción del eter dietílico saturado de agua (10) a fin de separar los lípidos; luego el fraccionamiento de las apolipoproteínas fue efectuado por el método electroforético de DAVIS y Col. (11) con ayuda de un aparato de migración marca Shandon.

RESULTADOS

En la tabla I observamos que los valores de los fosfolípidos totales de sujetos nacidos en la altura, son inferiores en un 24% cuando se los compara con los valores de sujetos del nivel del mar, 61.2 +— 15 ug de fósforo lipídico/ml. de suero (nativos de Bolivia), 80.8+—12 ug fósforo lipídico/ml. de suero (sujetos de Europa). Probabilidad estadística 0.001.

En los valores de las diferentes fracciones de fosfolípidos remarkamos que las lisofosfatidilcolinas esfingomielinas y las fosfatidilserinas de nativos de la altura se encuentran en concentraciones semejantes a

aquellas de nacidos a nivel del mar, sin embargo las concentraciones de fosfatidilcolinas de la población que habita a grandes alturas están disminuidas en un 45%.

Fósforo lipídico total sérico (ug/ml)	Sujetos Bo-	Sujetos Fran-
	livianos	ceses
	61,2 ± 15	80,8 ± 12
Fosfolípidos (%)		
Lisofosfatidilcolina (LPC)	13,9 ± 5	13,3 ± 4
Esfingomielinas (SPH)	26,8 ± 7	21,9 ± 5
Fosfatidilcolinas (PC)	36,7 ± 10	50,0 ± 7
Fosfatidilserinas (PS)	8,8 ± 3	6,4 ± 2
Fosfatidiletanolaminas (PE)	15,5 ± 10	7,8 ± 3
Relación PC/SPH	1,36	2,28

TABLA I.— Medidas de fosfolípidos séricos establecidos en 20 sujetos bolivianos y 18 franceses.

Los análisis referentes a la composición de ácidos grasos en las V.L.D.L. fueron hechos en ambas poblaciones (Tabla II), observando los resultados nos damos cuenta que la tasa de los ácidos grasos insaturados está más elevada en las V.L.D.L. de individuos nacidos en la altura y la relación de ácidos grasos insaturados / ácidos grasos saturados es de 1,3 en cambio en los individuos nacidos a nivel del mar esta relación es de 0,9.

Ácidos Grasos	Sujetos bolivianos	Sujetos Franceses
C13:0	—	4,1
C14:0	3,3	6,6
C15:0	vestigios	vestigios
C15:1	vestigios	vestigios
C16:0	32,4	38,7
C16:1	12,1	6,5
C17:0	vestigios	vestigios
C18:0	6,5	4,8
C18:1	26,3	28,0
C18:2	15,6	10,61
Ácidos grasos insaturados (AGI)	56,1	47,0
Ácidos grasos saturados (AGS)	43,9	53,0
AGI/AGS	1,3	0,9

TABLA II.— Composición centesimal de ácidos grasos de VLDL establecidos en 10 sujetos bolivianos y 10 sujetos franceses.

La elevación de los ácidos grasos insaturados se debe esencialmente al incremento de la concentración de los ácidos palmitoleico y linoleico.

La electroforesis de las apolipoproteínas de V.L.D.L. séricas presentan bandas semejantes en las dos poblaciones así en ambos geles distinguimos la apo B lipoproteínas (apo R serina) en el límite de los dos geles (gel de filtración y gel de migración); abajo las apo CI (apo R serina), las apo C II (apo R glutámico), las apo C III1, (apo R alanina—1) y las apo C III2 (apo R alanina—2).

DISCUSION

La disminución de fosfolípidos totales y de fosfatidilcolinas séricas observadas en sujetos nacidos en altura, podría estar relacionada con el decremento de las beta lipoproteínas, puesto que la mayor parte de las fosfatidilcolinas son transportadas por esta fracción (12), (13).

El descenso de la relación fosfatidilcolina / esfingomielina en los nativos de altura es debido a la caída de la concentración de fosfatidilcolina y no al incremento de esfingomielinas como ocurre en los pacientes con hiperlipidemia. (2).

La baja concentración de la fracción Beta lipoproteica está compensada por un incremento en la síntesis de las Pre Beta Lipoproteínas en los sujetos nacidos en altura. Las V.L.D.L. de estos individuos tienen una tasa relativamente elevada en fosfolípidos, sin embargo el colesterol total y los triglicéridos están ligeramente disminuídos (14).

Dentro la relación de composición fosfolípida de los V.L.D.L. y la arterioesclerosis es necesario considerar la sugerencia de Rodríguez y Col. (15); ellos enuncian que el incremento de esfingomielinas en los V.L.D.L. podría facilitar el depósito de colesterol en las paredes arteriales, estudios posteriores nos permitirán dilucidar la composición fosfolípida de esta fracción en nativos de altura.

Los análisis de los ácidos grasos de V.L.D.L. nos permiten afirmar que esta fracción posee un porcentaje relativamente elevado de ácidos grasos insaturados (ácido palmitoleico y linoleico) en relación a la tasa de ácidos grasos de V.L.D.L. séricos de sujetos nacidos a nivel del mar.

La elevación de ciertos ácidos grasos insaturados sobre todo el del ácido linoleico podría justificar en parte la débil incidencia de accidentes cardiovasculares en individuos nacidos en la altura, puesto que el ácido linoleico induce la poca formación de colesterol plasmático (16) (17). Para algunos investigadores (3) el descenso del ácido linoleico de los ésteres de colesterol sería un criterio más seguro en el diagnóstico del síndrome arterioesclerótico, que la elevación del colesterol plasmático, paradójicamente SMITH y Col. (1) (18) observaron que a medida que pasan los años en un individuo, existe una elevación progresiva del ácido linoleico en los ésteres del colesterol de la íntima de la aorta.

Por otra parte es importante mencionar que los habitantes bolivianos que viven a 3.600 mts. sobre el nivel del mar tienen alimentación pobre en lípidos (5).

La migración de las diferentes apolipoproteínas de las V.L.D.L. en las poblaciones estudiadas nos permiten afirmar que, las apo B y apo C lipoproteínas de los individuos nacidos en altura no presentan diferencia alguna en lo que concierne a la naturaleza y movilidad electroforética de sus bandas, sin embargo, se han observado modificaciones en ciertos casos de hiperlipoproteinemias, así CARLSON y BALLANTYNE (19) demuestran que la concentración de apo C II lipoproteína disminuye en los tipos IV y V, mientras que la tasa de apo C III lipoproteína aumenta. La relación apolipoproteína CII/CIII está disminuída en los pacientes con hipertrigliceridemia; nosotros no efectuamos estudios cuantitativos de estas apolipoproteínas.

RESUMEN

La evaluación de fosfolípidos, lipoproteínas y apolipoproteínas de las V.L.D.L. séricas fueron estudiadas comparativamente en poblaciones que viven a grandes alturas (bolivianos) y en poblaciones que habitan al nivel del mar (franceses).

Nosotros concluimos que, los sueros de nativos de altura presentan:

- 1.— Disminución de fosfolípidos totales acompañados de un decremento de fosfatidilcolinas.
- 2.— Un descenso en la concentración de Beta lipoproteínas compensada por un incremento en la concentración de V.L.D.L., la cual contiene:
 - a.— Tasas ligeramente disminuídas de colesterol total, ácido mirístico y ácido palmítico.
 - b.— Concentraciones ligeramente incrementadas de fosfolípidos y de ciertos ácidos grasos (ácidos palmitoleico y ácido linoleico).
- 3.— Las apolipoproteínas no presentan ninguna diferencia en lo que concierne a la naturaleza y movilidad electroforética de sus bandas.

REFERENCIAS

- 1.— SMITH, E. B. et SMITH, R. H. (1976). In *Atherosclerosis Reviews* (PAOLETTI, R. and GOTTO, A. M. eds), pp. 119—136. Raven Press, New York.
- 2.— NOEL, C. MARCEL. Y. L. et DAVIGNON. J. (1972). *J. Lab. Clin. Med.* 79, 611—621.
- 3.— KINGSBURG, K. J., BRETT, C., STOVOLD, R., CHAPMAN, A., ANDERSON, J. and MORGAN, D. M. (1974), *Post Grad. Med. J.*, 50, 425—440.
- 4.— JAILLARD, J., SEZILLE, G., SCHERPEREEL, P. H., FRUCHART, J. C. et BISERTE, G. (1972), *Pathol. Biol.* 20, 51—56.
- 5.— CAEN, J. P., DROUET, L., BELLANGER, R., MICHEL, H. et HENON, P. (1974), *Haemostasis*, 2, 13—20.
- 6.— DE LALLA, O.F. et GOFMANN, J. W. (1954). *Methods in Biochemical Analysis* (GLICK, D. ed.) 1, 459—478. Interscience Publishers, New York.

- 7.— CHEN, P. S., TORIBARA, T. Y. et WARNER, H. (1956), *Anal. Chem.*, 28, 1756—1758.
- 8.— METCALFE, L. D., SCHMITZ, A. A. et PELKA, J. R. (1966), *Anal. Chem.* 38, 514—515.
- 9.— VAN WUNGARDEN, D. (1967), *Anal. Chem.* 37, 848—849.
- 10.— PEARLSTEIN, E. et ALADJEM, F. (1972), *Biochemistry*, 11, 2553—2558.
- 11.— DAVIS, B. J. (1964), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 404—427.
- 12.— SCANU, A. M. et WISDEM, C. (1972), *Annual Review of Biochemistry* (SNELL, E. E., BOYER, P. D., MEISTER, A. and SINSCHMEIMER, R. L., eds.), pp. 703—730, Annual Reviews Inc., Palo Alto.
- 13.— MORRISSETT, J. D., JACKSON, R. L., GOTTO, A. M., (1975), *Annual Review of Biochemistry* (SNELL, E. E., BOYER, P. D., MEISTER, A. and RICHARDSON, C. C.), 44, 183—207, Annual Reviews Inc., Palo Alto.
- 14.— BELLIDO, D., DOUSSET, N., DOUSTE—BLAZY, L., DROUET, L., CAEN J. P., (1977), *Les colloques de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Medicale. Anthropologie des Populations Andines I.N.S.E.R.M.* (1976) vol. 63 pp. 497—504.
- 15.— RODRIGUEZ, N. L., GUISELLI, G. C., TORREGGIANI, D. et SIRTORI, E. R. (1976), *Atherosclerosis*, 23, 73—83.
- 16.— HONSTRA, G. (1974), *Haemostasis*, 2, 21—52.
- 17.— NORDY, A. (1974), *Haemostasis*, 2, 103—117.
- 18.— SMITH, E. B. et SLATER, R. S., *Ciba Foundation Symposium 12, Atherogenesis: Initiating factors* (1973), 39, 62. Elsevier, Amsterdam.
- 19.— CARLSON, L. A., et BALLANTYNE, D. (1976) *Atherosclerosis*, 23, 563—568.

SUMMARY

STUDY OF SERUM LIPIDS AND LIPOPROTEINS IN RESIDENTS OF HIGH ALTITUDE

The evaluation of phospholipids, and apolipoproteins of V.L.D.L. serum are studies comparatively in Bolivian and French populations.

We find out in Bolivians:

- 1) A decrease of serum total phospholipids with reduction of phosphatidylcholines.
- 2) A decrease of B—lipoproteins balanced by an increase of V.L.D.L. fraction which presents:
 - a) a high reduction of total cholesterol, myristic acid and palmitic acid,
 - b) an increase of the phospholipids and of certain fatty unsaturated acids (palmitoleic acid and linoleic acid).

Apolipoproteins do not reveal any difference regarding the nature and the electrophoretic mobility of their bands.